

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10248

研究課題名（和文）口腔内耐性菌の分布の把握と歯科による口腔衛生管理が医療・介護関連肺炎に及ぼす影響

研究課題名（英文）Understanding the distribution of resistant bacteria in the oral cavity and the impact of oral hygiene management by dentists on healthcare-associated pneumonia

研究代表者

吉川 峰加（Yoshikawa, Mineka）

広島大学・医系科学研究科（歯）・准教授

研究者番号：00444688

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）： 重度要介護高齢者における口腔内および直腸内の薬剤耐性菌（ARB）保菌状態を明らかにし、口腔内ARB保菌者を対象とした歯科医療従事者による専門的口腔清掃介入が口腔内ARBの保菌状態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

横断研究の協力者57名ではARBが29名(50.9%)の口腔から、44名(77.2%)の直腸から分離された。介入研究では23名の協力が得られ、日常の口腔清掃に加えて週1回の専門的口腔清掃を実施したが、ARBは消失しなかった。重度要介護高齢者では高率にARBの保菌を認め、医療・介護従事者はARB感染対策の正しい知識を持ち、標準予防策を実践することが重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後、薬剤耐性菌（ARB）の大幅な増加が懸念され、日本でもARB対策の行動計画が策定されている。そして医療機関だけでなく、高齢者介護施設などでもARBの感染対策に力を入れている現状がある。高齢者介護施設などではARB感染対策に関する対応が急性期と比べて十分ではない状況がある。今回の研究結果から、多くの医療・介護サポートの必要な重度要介護高齢者において口腔内や便内からARBが保菌されていることが明らかとなった。高齢者の医療・介護に携わるスタッフにおいても、ARBの感染対策の徹底や正しい知識のアップデートが必要である。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the oral and rectal carriage of antimicrobial-resistant bacteria (ARB) in elderly people with severe dependency of long-term care, and to clarify the effect of professional oral hygiene intervention by dental health care workers on oral ARB carriage in those with oral ARB.

Among 57 participants in the cross-sectional study, ARB were isolated from the oral cavity of 29 participants (50.9%) and from the rectum of 44 participants (77.2%). In the intervention study, 23 participants cooperated, and professional oral hygiene was performed once a week in addition to daily oral hygiene, but ARB did not disappear. ARB carriage is observed at a high rate in elderly people with severe long-term care, and it is important for medical and care workers to have correct knowledge of ARB infection control measures and practice standard precautions.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：薬剤耐性菌 要介護高齢者 口腔衛生

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

誤嚥性肺炎は口腔内細菌によって引き起こされ、その原因菌には薬剤耐性菌も含まれる。日本における医療・介護関連肺炎 (NHCAP) 患者の原因菌の約 20% から緑膿菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (MRSA)、基質特異性拡張型ラクタマーゼ (ESBL) 産生腸内細菌などの耐性菌を分離していることが報告されている。今後、薬剤耐性菌 (ARB) の大幅な増加が懸念され、日本でも ARB 対策の行動計画が策定されている。そして医療機関だけでなく、長期療養型介護施設 (LTCF) でも ARB の感染対策に力を入れている現状がある。

### 2. 研究の目的

われわれは、2020 年に比較的高いレベルの日常生活動作 (ADL) を有する LTCF 入所者 33% において、グラム陰性 ARB (GN-ARB) の口腔内保菌が認められたことを報告した<sup>1)</sup>。そこで今回、重度要介護レベルの高齢者ではより高い割合で ARB を保菌しているという仮説を立てた。本研究の目的は、重度要介護レベルの高齢者における口腔内および便内の ARB 保菌状態を明らかにするとともに、口腔内 ARB を保菌する重度要介護レベルの高齢者を対象とし、歯科医療従事者による専門的口腔清掃が、口腔内 ARB の保菌状態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 横断研究

某 LTCF (施設 X) を利用する高齢者を対象とした (広島大学病院審査委員会倫理委員会 E-1740)。対象者は、2020 年 11 月から 2021 年 6 月までに入所する 138 名から選出された。無作為抽出後、家族に対して研究協力を求め、家族からの同意を得て実施した。包含基準として、65 歳以上で、要介護 4 または 5 に認定されている者とした。さらに、施設 X へ研究開始以前に半年以上継続入所しており、その期間に他の医療施設等への受診・入院を認めない者とした。加えて、90 日以内に 2 回以上抗生剤の処方を受けた者を除外した。

カルテより年齢、性別、介護度、全身疾患、ADL や居住階に加えて、尿道カテーテル、胃ろう、経鼻胃管 (NG) の栄養摂取方法についても確認した。

ARB の保菌有無を確認するため、協力者から口腔スワブを採取後、CHROMagar™ ESBL、CHROMagar™ mSuperCARBA™、CHROMagar™ Candida プレート (関東化学、日本) およびブドウ球菌選択培地 (日水製薬、日本) に直接塗布した。直腸サンプルについても同様とした。CHROMagar™ ESBL、CHROMagar™ mSuperCARBA™ および CHROMagar™ Candida プレートを好気条件下、37℃ で 18 ~ 24 時間インキュベートし、インキュベート後にコロニー形成の存在を観察した。耐性の有無を確認するために、すべての陽性コロニーを新しいプレート上でインキュベートした。CHROMagar™ ESBL および CHROMagar™ mSuperCARBA™ 上で増殖させたものは、CHROMagar™ Candida プレート上で増殖させたものを GN-ARB から除外したものとみなした。PCR 法により、ESBL 産生遺伝子 (blaCTX-M-1、blaCTX-M-2、blaCTX-M-8、blaCTX-M-9、blaTEM、blaSHV) およびカルバペネム産生遺伝子 (blaGES) の存在を確認した。blaIMP および blaNDM および本研究のプライマーを確認した。また、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法 (MALDI-TOFMS) によって、これらの分離株の細菌種と抗菌薬感受性を確認した。第 3 世代セファロスポリン耐性菌として CHROMagar™ ESBL 上で、カルバペネム耐性菌として CHROMagar™ mSuperCARBA™ 上でそれぞれコロニーを分離した。

ブドウ球菌選択培地プレートも好気条件下、37℃ で 2 日インキュベートし、それらの黄色の単一コロニー (各サンプルで最大 4 つのコロニー) を採取し、新しい培地プレートに再プレーティングした。PCR 用の DNA 抽出と PCR 法は先行研究<sup>1)</sup>と同様に実施した。以上の方法により、

ARB、第三世代セファロスポリン耐性菌、カルバペネム耐性菌、MRSA の保有をスクリーニングした。

#### (2) 介入研究

上記の横断研究協力者のうち、介入研究への同意が得られた 23 名に対して実施した。介入は、看護師や介護士による日常の口腔清掃に加えて、歯科医師 1 名と歯科衛生士 3 名による専門的な口腔清掃（週に 1 回、8 週間）とした。専門的な口腔清掃には歯ブラシに加えて、歯間ブラシ、フロスおよび口腔保湿剤を用いた。含嗽薬に含まれる消毒剤が耐性菌の有無に影響を与える可能性があることから、本研究では含嗽薬を使用しなかった<sup>2)</sup>。口腔清掃の技術については研究開始前に、協力する歯科医師・歯科衛生士間で標準化した。

介入による保菌状態の変化を調べるため、介入前、介入中、介入直後（終了から 1~2 週間以内）、半年後、1 年後に、横断研究と同様の方法で GN-ARB および黄色ブドウ球菌を含む MRSA の有無を判定した。また、介入直後から 1 年後までの対象者における肺炎発症の有無を調べた。本研究は広島大学病院審査委員会倫理委員会により承認された (C-304-1)。

#### (3) 統計分析

ARB による口腔コロニー形成を認めた者と認めなかった者の間でベースラインデータを比較し、一変量統計法を行った。関連性はフィッシャーの直接確率検定を使用して分析の上、すべての有意変数を使用してロジスティック回帰分析を行った。有意水準は 5%とした。統計分析には、JMP® Pro 15.0.0 (SAS Institute Inc., USA) を用いた。

### 4. 研究成果

#### (1) 横断研究

57 名（平均年齢  $87.14 \pm 7.67$  歳、69-102 歳）の協力を得た。男性は 7 名 (12.3%) で平均年齢  $84.86 \pm 7.13$  歳 (75-95 歳) であり、女性は 50 名 (87.7%) で平均年齢  $87.46 \pm 7.75$  歳 (69-102 歳) であった。

57 名のうち、29 名 (50.9%) の口腔から ARB が分離された。口腔内 ARB に関しては、GN-ARB が 21 名 (36.8%) から分離され、MRSA が 17 名 (29.8%) から分離された。GN-ARB と MRSA の両方が 10 名 (17.5%) の口腔内に存在した。直腸からの検体に関しては、GN-ARB が 44 名 (77.2%) から分離され、MRSA は分離されなかった。GN-ARB は 18 名 (31.6%) の口腔と直腸の両方から分離された。57 名のうち、11 名は口腔および直腸から分離された同じ細菌種の GN-ARB を保有していた。GN-ARB の複数の細菌種が、口腔 (6 名) または直腸 (14 名) から分離された。ESBL 産生 Enterobacterales 分離株は、経口より 11 名 (19.3%)、直腸より 34 名 (59.6%) から検出された。さらに、緑膿菌分離株は口腔より 5 名 (8.8%)、直腸より 15 名 (26.3%) から検出された。

非経口摂取者 (OR 18.5、95% CI 4.419-77.604、 $P < 0.0001$ ) では、口腔内 ARB の保菌が有意に多かった。年齢、性別、ADL、病棟および全身疾患は、口腔内 ARB の保菌リスクではなかった。これらの因子を独立変数として用いたロジスティック回帰分析の結果、LTCF の重度要介護者において非経口摂取が ARB 陽性と有意に関連していることが明らかとなった。

#### (2) 介入研究

介入半年後までは対象者全員の調査が可能であったものの、1 年後には 7 名が死亡し、1 名は追跡できなかった。

介入前で GN-ARB を保有していた者 16 名 (69.6%) のうち、介入中 (介入開始 1 か月後) では 2 名において GN-ARB が分離されなかった。半年後では、介入前保菌していた者のうち、5 名で GN-ARB を分離しなかった。そしてそれら 5 名のうち 1 名 (4.3%) では、1 年後でも再び GN-ARB を保菌していなかった。介入開始前に GN-ARB を保菌していた 2 名では、介入終了直後 (8.7%)

のみで GN-ARB を分離しなかった。介入前に GN-ARB の保菌を認めなかった 3 名(13.0%)では介入直後より研究終了時まで GN-ARB を保菌した。

介入開始前に黄色ブドウ球菌を保有していた者 20 名(87.0%)のうち、MRSA を有した者は 14 名だった(60.9%)。黄色ブドウ球菌に関しても、すべての協力者において GN-ARB と同様に、各調査時において保菌を認めたり認めなかったり、再度分離したりするなど、分離に関する規則性などを認めなかった。

観察期間中に 7 名が肺炎に罹患し、うち 1 名は肺炎を 8 回発症した。同協力者は頻回な尿路感染症発症も認め、最終的に難治性肺炎で死亡した。さらに同協力者には脳梗塞の既往があり、胃ろうを造設しており、介入前の調査では、口腔と直腸の両方から EBSL 産生大腸菌が分離された。肺炎以外にも尿路感染症や敗血症などの感染症を発症する協力者を他にも認めたことから、感染症の罹患者と非罹患者における GN-ARB と黄色ブドウ球菌の保菌率を比較したところ、単変量解析により、口腔内 ESBL 産生 GN-ARB を保菌する者で罹患率が有意に高いことが明らかとなった ( $p=0.019$ )。

協力者は認知症末期の者が多く、慢性的な寝たきり状態であり、多くの全身疾患を有していた。施設 X には医師や看護師も常駐し、感染対策、排泄ケアや口腔清掃もしっかりと行われていた。施設常勤の歯科衛生士が残存歯や口腔機能なども把握しており、その専門的口腔衛生管理の頻度は協力者毎に異なるものの、年間を通じて行われていた。日常の口腔清掃は、基本的に 1 日 2 回、看護師・介護士によって行われていた。栄養管理も管理栄養士が行っており、十分な医療介護環境下にも関わらず、ARB の定着が彼らの口腔内で確認された。この研究では口腔と直腸の両方からの分離率が高く、要介護度が高くなるほど、耐性菌の蔓延が増加する可能性を示した。今後、急性期病院の患者のみならず、非経口摂取の患者に対しても、口腔内に ARB が存在する可能性が高く、適切な感染対策の必要性を訴えていく必要がある。

介入研究結果より専門的口腔清掃介入による ARB の消失はほぼ観察されなかった。したがって医療・介護スタッフらが、口腔内にも耐性菌が存在し、専門的な口腔管理によっても除去することが難しいという正しい知識を持ち、標準予防策を実践することが重要である。本研究の限界として COVID-19 の流行により 1 施設のみでの実施となったことが挙げられる。今後、同様の医療・介護環境を有する施設での大規模調査が必要と考えられた。

#### <引用文献>

- 1 . Oral colonization by antimicrobial-resistant Gram- negative bacteria among long-term care facility residents: prevalence, risk factors, and molecular epidemiology. Le Mi Nguyen-Tra, Kayama S, Yoshikawa M, Hara T, Kashiya S, Hisatsune J, Tsuruda K, Onodera M, Ohge H, Tsuga K, Sugai M. Antimicrob Resist Infect Control. 2020; 9: 45.
- 2 . Disinfectant susceptibility of third-generation-cephalosporin/carbapenem-resistant gram-negative bacteria isolated from the oral cavity of residents of long-term-care facilities  
Haruta A, kawada-Matsuo M, Le MN, Yoshikawa M, Kajihara T, Yahara K, Kitamura N, Kutsuno S, Arai C, Takeuchi M, Sugawara Y, Hisatsune J, Tsuga K, Ohge H, Sugai M, Komatsuzawa H. Appl Environ Microbiol. 2023; 89 (1): e0171222.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Haruta Azusa, Kawada-Matsuo Miki, Le Mi Nguyen-Tra, Yoshikawa Mineka, Kajihara Toshiki, Yahara Koji, Kitamura Norikazu, Kutsuno Shoko, Arai Chika, Takeuchi Maho, Sugawara Yo, Hisatsune Junzo, Tsuga Kazuhiro, Ohge Hiroki, Sugai Motoyuki, Komatsuzawa Hitoshi	4. 巻 89
2. 論文標題 Disinfectant Susceptibility of Third-Generation-Cephalosporin/Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated from the Oral Cavity of Residents of Long-Term-Care Facilities	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 e0171222
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/aem.01712-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 竹内真帆, 春田梓, 吉川峰加, 平岡綾, 森隆浩, 丸山真理子, 竹田智帆, 高橋優太郎, 上田裕次, 吉田光由, 津賀一弘
2. 発表標題 一介護医療院における口腔内薬剤耐性菌の保菌調査
3. 学会等名 (一社)日本老年歯科医学会第33回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshikawa M, Haruta A, Kajihara T, Takeuchi M, Kawada-Matsuo M, Le MN, Tsuga K, Komatsuzawa H, Ohge H, Sugai M
2. 発表標題 Oral and rectal colonization by Antimicrobial-resistant gram negative bacteria in older adults requiring severe intensive nursing care admitted to a long-term care facility
3. 学会等名 IAGG Asia/Oceania regional congress 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹内真帆, 春田梓, 吉川峰加, 吉田光由, 津賀一弘
2. 発表標題 一介護医療院における口腔内薬剤耐性菌の保菌調査
3. 学会等名 日本老年歯科医学会第33回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川峰加
2. 発表標題 要介護高齢者における口腔内薬剤耐性菌の保菌状況と経口摂取
3. 学会等名 第16回・第17回共催日本神経摂食嚥下・栄養学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川峰加
2. 発表標題 要介護高齢者における口腔内薬剤耐性菌の保菌状況と経口摂取
3. 学会等名 第91回日本感染症学会西日本地方会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruta A, Matsuo M, Yoshikawa M, Takeuchi M, Le Tra Nguyen M, Yahara K, Ouge H, Tsuga K, Sugai M, Komatsuzawa H
2. 発表標題 Isolation/characterization of oral antibiotic-resistant Gram-negative bacteria in nursing homes
3. 学会等名 The 94th Annual Meeting of Japanese Society for bacteriology (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	菅井 基行  (Sugai Motoyuki)  (10201568)	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・センター長   (82603)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	太田 耕司 (Ota Koji)  (20335681)	広島大学・医系科学研究科(歯)・教授  (15401)	
研究分担者	梶原 俊毅 (Kajihara Toshiki)  (40816948)	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官  (82603)	
研究分担者	吉田 光由 (Yoshida Mitsuyoshi)  (50284211)	藤田医科大学・医学部・教授  (33916)	
研究分担者	鹿山 鎮男 (Kayama Shizuo)  (50432761)	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・室長  (82603)	
研究分担者	津賀 一弘 (Tsuga Kazuhiro)  (60217289)	広島大学・医系科学研究科(歯)・教授  (15401)	
研究分担者	大毛 宏喜 (Oge Hiroki)  (70379874)	広島大学・病院(医)・教授  (15401)	
研究分担者	小松澤 均 (Komatsuzawa Hitoshi)  (90253088)	広島大学・医系科学研究科(歯)・教授  (15401)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------